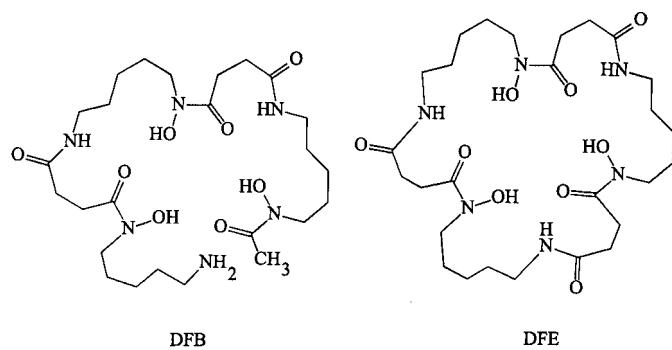


Strukturelle Charakterisierung eines Plutonium(IV)-Siderophor-Komplexes: Kristallstruktur von Pu-Desferrioxamin E**

Mary P. Neu,* John H. Matonic, Christy E. Ruggiero und Brian L. Scott

Um ausreichend essentielles Eisen aufnehmen zu können, produzieren die meisten Mikroorganismen sehr stark chelatisierende niedermolekulare Wirkstoffe, die Eisen über ein aktives Transportsystem in die Zelle befördern. Ferrioxamin-Siderophore sind lineare oder cyclische Hydroxamate, die 1-Amino-5-hydroxyaminopentan als Untereinheit enthalten.^[1] Desferrioxamin E (DFE) und D₂ (DFD₂) sind cyclische Verbindungen dieser Gruppe; die lineare Verbindung Desferrioxamin B (DFB)^[2] ist als bestes Medikament zur Bekämpfung von Eisen- und Aluminiumüberdosen bei Transfusionen bekannt.^[3] Die Desferrioxamine (DFOs) binden



Fe^{III} über einen weiten pH-Bereich (1–12), während sie für Fe^{II} nur eine sehr geringe Affinität aufweisen (DFB-Fe^{III}: lg β_{110} = 30.6, DFB-Fe^{II}: lg β_{110} = 7.2).^[4] Die DFO-Liganden sind sechsähnige, harte Sauerstoffdonoren, die auch andere harte Metallionen fest binden.

Wir haben die Komplexbildung und die Erhöhung der Löslichkeit von Plutonium durch Siderophore untersucht. Während Plutonium natürlich nicht vorkommt, wurden seit 1941 sechs Tonnen Plutonium in die Biosphäre freigesetzt.^[5] Darüber hinaus haben mehrere Einrichtungen des U.S. Department of Energy erhebliche Pu-Kontaminationsprobleme als Folge unbeachtigter Freisetzung und unzureichender Methoden der Abfallbehandlung in der Vergangenheit.^[6] Plutonium tritt in Böden sehr wahrscheinlich in Form von Plutonium(IV)-Hydroxid und -Oxid auf.^[7] Aufgrund der geringen Löslichkeit und der starken Sorption von nicht-

komplexiertem Pu^{IV} an Mineraloberflächen, was die Migration verhindert, sind diese Formen des Plutoniums ein geringes Risiko hinsichtlich der Kontamination von Grundwasser und/oder der Bioverfügbarkeit. Verbindungen, die die Löslichkeit des Plutoniums erhöhen, verstärken jedoch die Migration in der Umwelt und könnten so die Bioverfügbarkeit für viele Organismen deutlich erhöhen. Der Konzentrationsbereich für Ferrioxamine in Böden beträgt 0.01–0.1 μ M,^[8] die Stabilitätskonstante für einen Pu^{IV}-DFB-Komplex lg β_{110} = 30.8.^[9]

Wir haben ²³⁹Pu^{IV}-DFO-Komplexe durch Umsetzung von Pu^{III}-, Pu^{IV}-, Pu^V- oder Pu^{VI}-Ionen mit dem freien Liganden hergestellt. In allen Fällen wurden nach einiger Zeit Pu^{IV}-DFO-Verbindungen erhalten. Die Hydrolyse von Pu^{IV} sowie die Bildung mehrerer Verbindungen werden auf ein Minimum herabgesetzt, wenn zur Herstellung der Titelverbindung ein Äquivalent H₄DFE mit Pu^{III} in 2 M Trifluormethansulfonsäure umgesetzt wird. Nach Einstellen des pH-Werts auf 2 mit einer 0.01 M Al-Lösung in 1 M NaOH entsteht ein Pu^{III}-DFE-Komplex, der an Luft schnell zum Pu^{IV}-Komplex oxidiert wird. Nach Einengen der Lösung bilden sich bei 7 °C innerhalb einer Woche Kristalle. Eine Röntgenstrukturanalyse ergab, dass es sich bei dem Produkt um $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Pu}(\text{DFE})(\text{H}_2\text{O})_3]_2 \cdot (\text{CF}_3\text{SO}_3)_5 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ **1** handelt.^[10] Dies ist die erste Plutonium-Siderophor-Verbindung, deren Struktur ermittelt wurde.

Die asymmetrische Einheit enthält ein $[\text{Pu}(\text{DFE})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ -Ion (Abbildung 1), ein Hexaaquaaluminium(III)-Ion, vier Trifluormethansulfonat-Ionen und sieben Wassermoleküle.

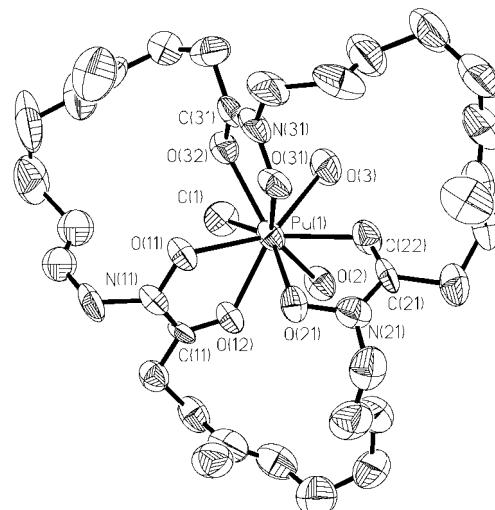


Abbildung 1. Schwingungsellipsoide des Pu-Kations in **1**. Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°]: Pu-O(1) 2.461(12), Pu-O(2) 2.472(11), Pu-O(3) 2.456(12), Pu-O(11) 2.315(10), Pu-O(12) 2.361(10), Pu-O(21) 2.296(11), Pu-O(22) 2.341(11), Pu-O(31) 2.303(11), Pu-O(32) 2.386(12), O(1)-Pu-O(2) 74.5(4), O(1)-Pu-O(11) 85.3(4), O(1)-Pu-O(12) 71.0(4).

Das neunfach koordinierte Pu-Atom wird in etwa einem Halbraum von DFE koordiniert und von drei Wassermolekülen im anderen. Die polytope Geometrie der Pu-Koordinationssphäre (Abbildung 2) ist ein etwas verzerrtes trigonales Prisma, in dem drei gebundene Wassermoleküle und drei Oximatsauerstoffatome die trigonalen Flächen aufspannen (diese sind um 10.1° gegeneinander gedreht) und drei

[*] Dr. M. P. Neu, Dr. J. H. Matonic, Dr. C. E. Ruggiero, Dr. B. L. Scott
Chemical Science and Technology Division
Chemical and Environmental Research and Development
Mail Stop G739, Los Alamos National Laboratory
Los Alamos, NM 87545 (USA)
Fax: (+1) 505-665-4624
E-mail: mneu@lanl.gov

[**] Diese Arbeit wurden vom U.S. Department of Energy (Natural and Accelerated Bioremediation Research (NABIR) Project) gefördert. Wir danken Prof. G. Winkelmann, Universität Tübingen, für die großzügige Bereitstellung einer Desferrioxamin-E-Probe.

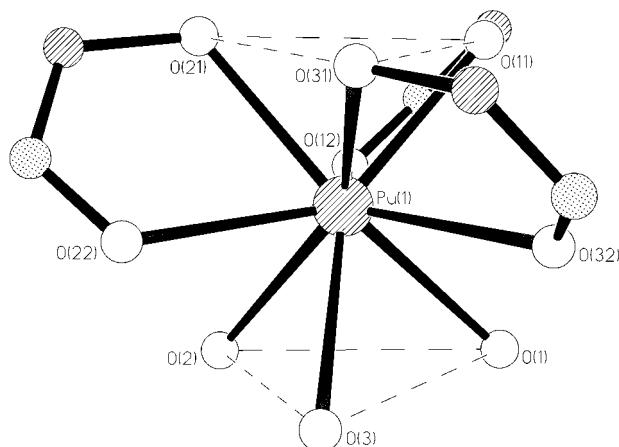


Abbildung 2. Darstellung des dreifach überkappten trigonalen Koordinationsprismas.

Carbonylsauerstoffatome über den Seitenflächen des Prismas liegen. Die vier Trifluormethansulfonat(Triflat)-Gruppen bilden mit den interstitiellen Wassermolekülen ein Wasserstoffbrückennetz.

Es gibt bislang nur wenige strukturell aufgeklärte Pu-Verbindungen. Für die am häufigsten vorkommende Oxidationsstufe, Pu^{IV}, wurden lediglich Komplexe mit einigen ein- und zweizähnigen Liganden durch Einkristall-Röntgenbeugung charakterisiert. Die meisten Plutonium(IV)-Verbindungen, die durch Röntgenbeugung charakterisiert wurden, weisen die Koordinationszahlen acht, zehn oder zwölf auf und enthalten mehrere zweizähnige Liganden in einer quadratisch antiprismatischen, dodekaedrischen oder ikosaedrischen Anordnung, wie z.B. die Oxalat-, Nitrat-, Carbonat- und Sulfonat-Komplexe.^[11] Verbindung **1** ist die erste molekulare Verbindung mit neunfach koordiniertem Pu^{IV}-Ion.

Die Strukturen des freien DFE-Liganden und dessen Fe^{III}-Komplex wurden bereits bestimmt.^[12] Die Strukturen der Fe^{III}- und der Pu^{IV}-DFE-Verbindung sind in Abbildung 3 übereinandergelegt. Bemerkenswert ist, dass das DFE-Molekül in beiden Verbindungen den gleichen Durchmesser aufweist, jedoch in **1** so flexibel ist, dass die Hydroxamat-

gruppe um ca. 20° im Vergleich zur Struktur der Fe^{III}-Verbindung gedreht werden kann und so noch die drei koordinierenden Wassermoleküle aufgenommen werden können. Folglich betragen die Bindungswinkel zwischen den Sauerstoffatomen, die in der Fe-Verbindung *trans* angeordnet sind (ca. 180°), in der Pu-Verbindung 140.8(4)° (O(11)-Pu-O(22)), 136.5(4)° (O(21)-Pu-O(32)) und 135.7(4)° (O(12)-Pu-O(31)). Aufgrund dieser Drehung und des größeren Radius des Pu-Atoms kann der DFE-Ligand dieses Ion nur von einer Seite umfassen, statt es wie das Fe^{III}-Ion völlig zu umschließen. Das größere Pu^{IV}-Ion führt darüber hinaus zu einer Verlängerung der Metall-Hydroxamat-Bindungen von 1.938(4)–2.089(3) Å in der Fe-Verbindung auf 2.303–2.375 Å, was seinerseits den Bisswinkel von 79.1° (Mittelwert) auf 65.6° (Mittelwert) verringert. Die Struktur weist drei unterschiedliche Pu-O-Bindungen auf: Pu-O(Wasser)-Bindungen mit einem Abstand von 2.463(12) Å (Mittelwert) und Pu-O(Hydroxamat)-Bindungen mit zwei unterschiedlichen Abständen, die die unterschiedlich große negative Ladung an den Oximatsauerstoffatomen widerspiegeln. Im Mittel sind die Pu-O_N-Bindungen um 0.06 Å kürzer als die Pu-O_C-Bindungen. Diese Differenz ist geringer als jene, die für andere M^{IV}-Hydroxamat-Komplexe angegeben wurden (0.105–0.142 Å).^[13]

Die *cis-cis*-Konfiguration der Oximatsauerstoffatome des DFE-Moleküls relativ zueinander ist identisch mit der in der Fe-Verbindung. Eine korrekte *cis*- oder *trans*-Zuordnung des neunfach koordinierten Pu-Atoms ist nicht möglich; eine „Pseudo“-Zuordnung kann jedoch aus den Winkeln abgeleitet werden. Diese Konfiguration könnte eine Folge der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Oximatsauerstoffatomen und den hydratisierten Aluminiumkationen sein. Das Aluminiumkation liegt auf einem Inversionszentrum zwischen zwei Pu-DFE-Komplex-Einheiten. Die Wassermoleküle des hydratisierten Al^{III}-Ions bilden starke Wasserstoffbindungen zu allen drei Oximatsauerstoffatomen der DFE-Hydroxamatgruppen (O(21)-O(70) 2.63(5), O(11)-O(72) 2.62(5), O(31)-O(71) 2.61(4) Å).

DFO hat die außergewöhnliche Fähigkeit, ein wesentlich größeres und strukturell andersartiges Metallkation als Eisen zu binden. Die einzigartigen Eigenschaften dieses Liganden, im Besonderen die lipophilen Pentangruppen und die hydrophilen polaren Carbonyl- und Hydroxamatgruppen, scheinen dem Metallkomplex eine spezifische Molekülstruktur zu diktieren. Anders als im freien Liganden liegen im Pu^{IV}-DFE- und im Fe^{III}-DFE-Komplex alle drei polaren Peptid-carbonylgruppen auf der gleichen Seite des Moleküls. Diese Konfiguration könnte wichtig für einen Mechanismus sein, nach dem Mikroorganismen Metallkomplexe erkennen und in die Zelle transportieren können. Erste Untersuchungen der wässrigen Pu^{IV}-Spezies in Gegenwart von DFB und DFE ergaben, dass ähnliche Produkte in Abhängigkeit vom pH-Wert gebildet werden: ein Komplex bei niedrigerem pH-Wert (<4) und ein weiterer bei höheren pH-Werten (4–10). Untersuchungen zur Löslichkeit von **1** und anderer Pu^{IV}-DFO-Komplexe und zur Aufnahme von Plutonium durch Bakterien in Gegenwart von DFB sind im Gange.

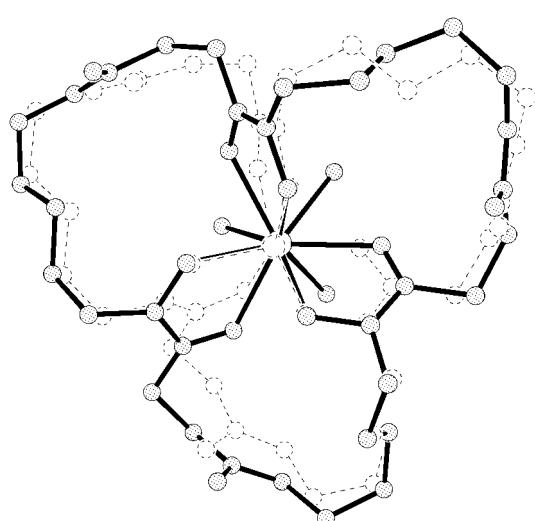


Abbildung 3. Überlagerung der Strukturen von Eisenoxamin E (gestrichelte Linie) und des Pu-Komplekts von **1** (durchgehende Linie).

Eingegangen am 3. November 1999 [Z 14219]

- [1] *Handbook of Microbial Iron Chelates* (Hrsg.: G. Winkelmann), CRC, Boca Raton, 1991.
- [2] H. Bickel, G. E. Hall, W. Keller-Schierlein, V. Prelog, E. Vischer, A. Wettstein, *Helv. Chim. Acta* **1960**, 43, 2129.
- [3] a) R. R. Crichton, *Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism*, Ellis Horwood, New York, 1991, S. 173–190; b) J. P. Day in *Aluminum and other Trace Elements in Renal Disease* (Hrsg.: A. Taylor), Bariere Tindall, Eastbourne, 1986, S. 184–191.
- [4] a) G. Schwarzenbach, A. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta* **1963**, 46, 1390; b) G. Anderegg, F. L'Eplattenier, G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta* **1963**, 46, 1400.
- [5] G. T. Seaborg, W. D. Loveland, *The Elements Beyond Uranium*, Wiley, New York, 1990, S. 359.
- [6] R. G. Riley, J. M. Zachara, DOE/ER-0547-T U.S. DOE, Office of Energy Research, Subsurface Science Program, Washington, 1992.
- [7] „Scientific Basis for Waste Management“: J. I. Kim, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* **1993**, 3–21.
- [8] P. E. Powell, G. R. Cline, C. P. P. Reid, P. J. Szanislo, *Nature* **1980**, 287, 833–834.
- [9] N. V. Jarvis, R. D. Hancock, *Inorg. Chim. Acta* **1991**, 182, 229–232.
- [10] Röntgenstrukturanalyse von 1: Bruker-Diffraktometer, CCD-Detektor, $Mo_K\alpha$ -Strahlung ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$), Graphitmonochromator, ϕ - und ω -Scan-Methode, SADABS^[14]-Absorptionskorrektur. $0.50 \times 0.25 \times 0.10 \text{ mm}$, Raumgruppe $Pbcm$, $a = 13.1585(8) \text{ \AA}$, $b = 23.9480(12) \text{ \AA}$, $c = 37.521(2) \text{ \AA}$, $V = 11823.6(12) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $T = 295 \text{ K}$. Strukturklärung nach Patterson und Differenz-Fourier-Methode mit dem Programm SHELXS-97^[15]. Kleinste-Fehlerquadrate-Verfeinerung mit SHELXS-97^[16] mit Ausnahme der F- und O-Atome des Triflat-Ions wurden alle Atome anisotrop verfeinert, der Triflat-C-S-Abstand wurde mit 1.75 \AA konstant gehalten. Verfeinerung von F^2 mit $wR_2 = 0.211$, $R_1 = 0.108$. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-136339“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [11] a) N. C. Jayadevan, K. D. Singh-Mudher, D. M. Chackraburty, *Z. Kristallogr.* **1982**, 161, 7–13; b) M. R. Spirlet, J. Rebizant, C. Apostolidis, B. Kanellakopoulos, E. Dornberger, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1992**, 48, 1161–1164; c) D. L. Clark, S. D. Conradson, D. W. Keogh, P. D. Palmer, B. L. Scott, C. D. Tait, *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 2893–2899.
- [12] a) D. van der Helm, M. Poling, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 82–86; b) M. B. Hossain, J. Maf, D. van der Helm, K. Shimizu, *J. Chem. Crystallogr.* **1998**, 28, 53–56; c) M. B. Hossain, D. van der Helm, M. Poling, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1983**, 39, 258–263; d) M. B. Hossain, M. A. F. Jalal, D. van der Helm, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1986**, 42, 1305–1310.
- [13] W. L. Smith, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 3341–3349 zit. Lit.
- [14] G. M. Sheldrick, Empirical Absorption Correction Program, Universität Göttingen, 1996.
- [15] G. M. Sheldrick, Program for Crystal Structure Solution, Universität Göttingen, 1997.
- [16] G. M. Sheldrick, Program for Crystal Structure Refinement, Universität Göttingen, 1997.

Synthese des N-terminalen N-myristoylierten und S-palmitoylierten Undetrigintapeptids der endothelialen NO-Synthase^{**}

Rainer Machauer und Herbert Waldmann*

Die Freisetzung von NO aus Arginin durch die endotheliale NO-Synthase (eNOS) als Antwort auf exogene Signale gehört zu den entscheidenden Schritten bei der Regulierung des Blutdrucks.^[1, 2] Darüber hinaus ist die eNOS in die Angiogenese^[3] involviert und trägt zur Pathogenese von Krankheiten bei, an denen die Blutgefäße beteiligt sind, wie z. B. die Arteriosklerose.^[4, 5] Damit die eNOS ihre biologischen Funktionen korrekt erfüllen kann, muss sie in der Plasmamembran lokalisiert sein und in dieser in Caveolae, Membranmikrodomänen, in denen zahlreiche signaltransduzierende Proteine konzentriert sind, angereichert werden.^[6]

Im Unterschied zu den anderen bisher identifizierten Isoformen der NO-Synthase ist der N-Terminus der eNOS N-myristoyliert und zweifach S-palmitoyliert (siehe Abbildung 1 und **1** in Schema 1).^[7] Die Lipidgruppen werden für die

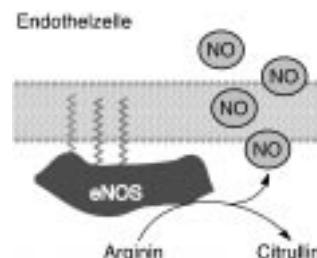


Abbildung 1. Membranverankerung und enzymatische Aktivität der endothelialen NO-Synthase.

Lokalisierung in der Plasmamembran und die biologische Aktivität benötigt.^[6, 8] Die genauen biologischen Rollen des lipidierten Proteins sind allerdings Gegenstand zahlreicher Hypothesen. Insbesondere wurde vorgeschlagen, dass die Lipidgruppen für die selektive Addressierung der eNOS an die Plasmamembran und hier in die Caveolae verantwortlich sein könnten, z. B. durch Vermittlung von Protein/Protein- oder Protein/Lipid-Wechselwirkungen, und dass Palmitoylierung und Depalmitoylierung in die Signalvermittlung über die eNOS involviert sein könnten.^[5]

Lipidierte Peptide, die die charakteristischen Partialstrukturen der zugehörigen lipidierten Proteine enthalten, haben

[*] Prof. Dr. H. Waldmann, Dipl.-Chem. R. Machauer^[+]
Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie
Abteilung Chemische Biologie
Otto-Hahn-Straße 11, 44227 Dortmund (Deutschland)
Fax: (+49) 231-133-2499
E-mail: herbert.waldmann@mpi-dortmund.mpg.de

[+] Institut für Organische Chemie der Universität Karlsruhe (TH)
Richard-Willstätter-Allee 2, 76128 Karlsruhe (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.